

Διαγώνισμα Βιολογίας
Γ΄ Λυκείου – Θετική κατεύθυνση
(Κεφ. 1, 2,4)

ΖΗΤΗΜΑ 1^ο

A. Επιλέξτε μία απάντηση στις παρακάτω ερωτήσεις:

1. Το μιτοχονδριακό DNA ενός κυττάρου:

- α. είναι πατρικής προέλευσης
- β. περιέχει γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά
- γ. κληροδοτείται από την μητέρα
- δ. είναι μονόκλωνο

Μονάδες 5

2. Ο φωσφοδιεστερικός δεσμός σχηματίζεται:

- α. μεταξύ των αζωτούχων βάσεων των νουκλεοτιδίων.
- β. μεταξύ των σακχάρων των νουκλεοτιδίων.
- γ. μεταξύ του σακχάρου του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας του επόμενου.
- δ. ανάμεσα στις συμπληρωματικές βάσεις.

Μονάδες 5

3. Η τριάδα των βάσεων 3'-TGA-5' της μεταγραφόμενης αλυσίδας του DNA καθορίζει την ένταξη του αμινοξέος θρεονίνη στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Ο συνδιασμός που δίνει τις σωστές τριάδες βάσεων για το αμινοξύ θρεονίνη στο mRNA και το tRNA αντίστοιχα είναι:

- α. 5'-ACT-3', UGA
- β. 5'-ACU-3', UGA
- γ. 3'-ACU-5', UGA
- δ. 3'-ACU-3', UGA

Μονάδες 5

4. Τα μικρά ριβονουκλεπρωτεϊνικά σωματίδια τα συναντούμε:

- α. στα ημιαυτόνομα οργανίδια.
- β. στο κυτταρόπλασμα.
- γ. στο προκαρυωτικό κύτταρο.
- δ. στο πυρήνα.

Μονάδες 5

5. Αν μια αλυσίδα του DNA έχει λόγο $A+T/C+G=2/3$, ο ίδιος λόγος στη συμπληρωματική αλυσίδα είναι:

- α. $2/3$
- β. $3/2$
- γ. 2
- δ. 3

Μονάδες 5

ΖΗΤΗΜΑ 2^ο

A. Δώστε τους ορισμούς των παρακάτω όρων: Αποικία, Ημισυντηρητικός μηχανισμός αντιγραφής, Αδελφές χρωματίδες, Μετασχηματισμός, cDNA βιβλιοθήκη

Μονάδες 10

B. Να περιγράψετε την αρχική διατύπωση του κεντρικού δόγματος της Βιολογίας. Ποια στάδια του κεντρικού δόγματος γίνονται στα μιτοχόνδρια;

Μονάδες 10

Γ. Ποια είναι η σημασία της 5' αμετάφραστης περιοχής του mRNA στην διαδικασία της μετάφρασης;

Μονάδες 5

ΖΗΤΗΜΑ 3^ο

A. Ποιος είναι ο ρόλος της RNA πολυμεράσης;

Μονάδες 6

Β. Ποιούς τρόπους έχει το κύτταρο ώστε να παράγει σε μικρό χρόνο μεγάλες ποσότητες μιας πρωτεΐνης;

Μονάδες 6

Γ. Με την τεχνολογία του ανασυνδιασμένου DNA είναι δυνατή η παραγωγή β-αλυσίδων της ανθρώπινης αιμοσφαιρίνης σε βακτηριακά κύτταρα.

i. Ποιος είδος βιβλιοθήκης (cDNA ή γονιδιωματική) θα χρησιμοποιηθεί για το παραπάνω εγχείρημα; Εξηγήστε.

Μονάδες 5

ii. Ποιο τμήμα του γονιδίου της β-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης θα έχει κλωνοποιηθεί μέσα στα βακτήρια του κλώνου;

Μονάδες 3

iii. Πώς μπορούμε να εντοπίσουμε το συγκεκριμένο κομμάτι κλωνοποιημένου DNA, που αντιστοιχεί στη β-αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης, μέσα από τους κλώνους της βιβλιοθήκης

Μονάδες 5

ΖΗΤΗΜΑ 4^ο

Δίνεται το παρακάτω τμήμα DNA που φέρει ασυνεχές γονίδιο με δυο εξώνια και ένα εσώνιο που κωδικοποιεί μια πεπτιδική αλυσίδα πέντε αμινοξέων:

GGGGATCCCTTAAGCTAATATGGGATCCCTTAAGATGTTATACTAGGTTGTGGCATTGATT
CCCCTAGGGAATTCGATTATACCCTAGGGAATTCTACAATATGATCCAACACCGTAACTAA

Κατά τη μεταγραφή του παραπάνω γονιδίου, το ένζυμο RNA πολυμεράση μεταγράφει τη μεταγραφόμενη αλυσίδα του DNA συνεχώς και σταματά μόλις συναντήσει την αλληλουχία λήξης της μεταγραφής 3'ΤΑΑΤΑΤ5' απελευθερώνοντας το μόριο mRNA. Αν θεωρήσουμε ότι το πρώτο νουκλεοτίδιο που μεταγράφεται αντιστοιχεί στο πρώτο νουκλεοτίδιο του κωδικονίου έναρξης:

α. Να ορίσεις τι ονομάζουμε κωδική και μη κωδική αλυσίδα

Μονάδες: 4

β. Να προσδιορίσεις στο παραπάνω τμήμα DNA ποια είναι η κωδική και μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου και να σημειώσεις τον προσανατολισμό των αλυσίδων

Μονάδες: 3

γ. Να ορίσεις τι είναι ο υποκινητής και να σημειώσεις με ένα βέλος τη θέση του πάνω στο τμήμα του DNA

Μονάδες: 5

δ. Να σημειώσεις την κατεύθυνση μεταγραφής του γονιδίου

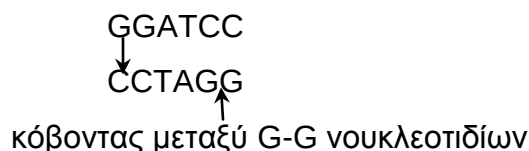
Μονάδες: 2

ε. Αν το εξώνιο στο οποίο τελειώνει η πληροφορία για τη σύνθεση της πεπτιδικής αλυσίδας έχει 2 κωδικόνια ενώ τα υπόλοιπα κωδικόνια βρίσκονται στο άλλο εξώνιο, να βρείς την αλληλουχία σε αζωτούχες βάσεις του ώριμου mRNA που παράγεται σημειώνοντας τον προσανατολισμό του.

Μονάδες: 6

στ. Αν έχετε στη διάθεση σας τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες EcoRI και BamHI, ποια περιοριστική ενδονουκλεάση θα χρησιμοποιήσουμε για να δημιουργήσουμε ανασυνδυασμένο πλασμίδιο, που να περιέχει την αλληλουχία λήξης της μεταγραφής; Αφού επιλέξετε την κατάλληλη περιοριστική ενδονουκλεάση να σημειώσετε τις αλληλουχίες DNA που θα προκύψουν μετά τη δράση της στο μόριο DNA.

Η περιοριστική ενδονουκλεάση BamHI αναγνωρίζει την αλληλουχία:



Μονάδες: 5

Καλή Επιτυχία!

(Διάρκεια 3 ώρες)

Απαντήσεις

ΖΗΤΗΜΑ 1^ο

1 γ, 2 γ, 3 β, 4 δ, 5 α

ΖΗΤΗΜΑ 2^ο

A.

Αποικία σελ. 13

Ημισυντηρητικός μηχανισμός αντιγραφής σελ. 27

Αδελφές χρωματίδες (λεξιλόγιο)

Μετασχηματισμός

cDNA βιβλιοθήκη

B.

«Το DNA ενός οργανισμού είναι ο μοριακός «σκληρός.... αποτελούν τη γονιδιακή έκφραση.» σελ. 31

Συνοψίζοντας, λοιπόν, διαπιστώνουμε ότι η αντιγραφή του DNA διαιώνίζει τη γενετική πληροφορία, ενώ η μετάφραση χρησιμοποιεί αυτή την πληροφορία, για να κατασκευάσει ένα πολυπεπτίδιο. Η μεταγραφή καθορίζει ποια γονίδια θα εκφραστούν, σε ποιους ιστούς (στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς), και σε ποια στάδια της ανάπτυξης. Σελ. 31

Γ.

«Κατά την έναρξη.....μεθειονίνη» σελ.36

ΖΗΤΗΜΑ 3^ο

A.

«Κατά την έναρξη της μεταγραφής με 3'-5'φωσφοδιεστερικό δεσμό».σελ. 33

B.

Στην γρήγορη παραγωγή πολλών μορίων μιας πρωτεΐνης συμβάλλουν:

- α. η δυνατότητα να μεταγράφονται πολλά μόρια mRNA από το ίδιο γονίδιο
- β. η δυνατότητα να συνδέονται διαδοχικά πολλά ριβοσώματα στο ίδιο mRNA.
Όταν ένα ριβόσωμα έχει ήδη μεταφράσει τα πρώτα κωδικόνια, η θέση έναρξης του mRNA είναι ελεύθερη να συνδεθεί με άλλο ριβόσωμα, σύμπλεγμα το οποίο ονομάζεται πολύσωμα.
- γ. Για κάθε μοριο mRNA υπάρχουν σχεδόν πάντα δυο γονίδια που μπορούν να μεταγράφονται ταυτόχρονα. (Ένας διπλοειδής οργανισμός έχει κατά κανόνα 2 αντίγραφα κάθε γονιδίου στο γονιδίωμα του).
- δ. Στο προκαρυωτικό κύτταρο η μετάφραση μπορεί να αρχίσει πριν τελειώσει η μεταγραφή.
- ε. Η ρύθμιση γονιδιακής έκφρασης:

στο επίπεδο μετά τη μεταγραφή: μηχανισμοί που καθορίζουν την ταχύτητα με την οποία το ώριμο mRNA αφήνει τον πυρήνα και εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα.

στο επίπεδο της μετάφρασης. Ο χρόνος που «ζουν» τα μόρια mRNA στο κυτταρόπλασμα δεν είναι ο ίδιος για όλα τα είδη RNA, επειδή μετά από κάποιο χρονικό διάστημα αποικοδομούνται. Επίσης, ποικίλλει και η ικανότητα πρόσδεσης του mRNA στα ριβοσώματα.

Γ. i. Η γονιδιωματική βιβλιοθήκη είναι το σύνολο βακτηριακών κλώνων που αντιπροσωπεύουν ολόκληρο το γονιδίωμα ενός οργανισμού-δότη.

Η cDNA βιβλιοθήκη είναι το σύνολο βακτηριακών κλώνων που περιέχουν αντίγραφα DNA που αντιστοιχούν στο ώριμο mRNA που απομονώνεται από ένα κύτταρο ή ένα ιστό.

Στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς πολλά γονίδια μεταγράφονται σε ορισμένους μόνο κυτταρικούς τύπους. Έτσι αν θέλουμε να κλωνοποιήσουμε μόνο τα γονίδια που εκφράζονται σε συγκεκριμένα κύτταρα, με σκοπο την παραγωγή προϊόντος τότε αυτό δεν είναι εφικτό.

Ακόμα και αν εκφράζονται τα ευκαρυωτικά γονίδια μέσα στα προκαρυωτικά υπάρχει και το πρόβλημα:ωρίμανσης. Κατά την κλωνοποίηση ευκαρυωτικών γονιδίων εισάγεται ολοκληρωτο ασυνεχές γονίδιο (εξώνιο-εσώνιο) στο προκαρυωτικό κύτταρο. Η αλληλουχία μόνο του ευκαρυωτικού mRNA στο προκαρυωτικό κύτταρο περιλαμβάνει εσώνια και εξώνια και συνεπώς είναι διαφορετική από την αντίστοιχη αλληλουχία του mRNA στο ευκαρυωτικό. Άρα θα είναι διαφορετική και η πρωτεΐνη.

Με βάση τα παραπάνω θα χρησιμοποιηθεί η cDNA βιβλιοθήκη.

ii. Οι cDNA βιβλιοθήκες περιέχουν αντίγραφα των mRNA όλων των γονιδίων που εκφράζονται στα κυτταρικά τύπο από όπου απομονώθηκε το mRNA και έχουν το πλεονέκτημα απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών των γονιδίων που μεταφράζονται σε αμινοξέα, δηλαδή των εξωνίων. Με αυτό τον τρόπο δίνουν τη δυνατότητα σύνθεσης της πρωτεΐνης ενός συγκεκριμένου γονιδίου στο κύτταρο-ξενιστή.

iii) Αν επιδράσουμε στο DNA που απομονώθηκε με κατάλληλες χημικές ουσίες ή αυξήσουμε τη θερμοκρασία τότε σπάζουν οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των δύο συμπληρωματικών αλυσίδων και οι δύο αλυσίδες αποχωρίζονται η μία από την άλλη. Η διαδικασία αυτή λέγεται αποδιάταξη. Οι δύο μονόκλωνες συμπληρωματικές αλυσίδες σε κατάλληλες συνθήκες μπορούν να επανασυνδεθούν. Στην ιδιότητα αυτή στηρίζεται η διαδικασία της υβριδοποίησης που είναι η σύνδεση μονόκλωνων συμπληρωματικών αλυσίδων DNA ή συμπληρωματικών DNA-RNA. Η υβριδοποίηση είναι μια πολύ σημαντική ιδιότητα του DNA που μας δίνει τη δυνατότητα αν έχουμε ένα γνωστό μόριο DNA, να το χρησιμοποιήσουμε ως ανιχνευτή για τον εντοπισμό του συμπληρωματικού του όταν το τελευταίο βρίσκεται μαζί με χιλιάδες άλλα κομμάτια.

Η τεχνική που χρησιμοποιείται συνήθως περιλαμβάνει τη χρήση που έχουν αλληλουχίες συμπληρωματικές προς το κλωνοποιημένο DNA (στην συγκεκριμένη περίπτωση αλληλουχίες συμπληρωματικές προς την αλληλουχία των εξωνίων του γονιδίου της β-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης). Οι ανιχνευτές αναμειγνύονται με το DNA της βιβλιοθήκης (το οποίο έχει αποδιαταχθεί) και υβριδοποιούν μόνο το συμπληρωματικό τους DNA. Η διαδικασία της υβριδοποίησης ακολουθείται και για την απομόνωση ενός συγκεκριμένου γονιδίου από μια cDNA βιβλιοθήκη.

ΖΗΤΗΜΑ 4^ο

α. Το μόριο RNA που συντίθεται είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο προς τη μία αλυσίδα της διπλής έλικας του DNA του γονιδίου. Η αλυσίδα αυτή είναι η μεταγραφόμενη και ονομάζεται μη κωδική.

Η συμπληρωματική αλυσίδα του DNA του γονιδίου που δεν μεταγράφεται ονομάζεται κωδική και έχει τον ίδιο προσανατολισμό και αλληλουχία (αντί για Τ υπάρχει U) με το RNA

β. Κατά τη μεταγραφή:

η σύνθεση RNA έχει προσανατολισμό 5' → 3' (στην RNA πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα, το πρώτο της νουκλεοτίδιο έχει πάντα μία ελεύθερη φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη στον 5' άνθρακα της πεντόζης του και το τελευταίο νουκλεοτίδιο της έχει ελεύθερο το υδροξύλιο του 3' άνθρακα της πεντόζης).

η σύνθεση του RNA σταματά από αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής

το μόριο RNA που συντίθεται είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο προς την μη κωδική αλυσίδα. Άρα η κατεύθυνση ανάγνωσης της μη κωδικής αλυσίδας είναι 3'-5'

Συμπερασματικά:

Η μοναδική αλληλουχία λήξης TATAAT που έχει προσανατολισμό 3'-5' και βρίσκεται στην πάνω αλυσίδα.

Άρα η πάνω αλυσίδα είναι η μεταγραφόμενη (μη κωδική) με αλληλουχία και προσανατολισμό:

5' GGGGATCCCTTAAGCTAATATGGGATCCCTTAAGATGTTATACTAGGTTGTGGCATTGATT 3'

Οι δύο αλυσίδες του DNA είναι αντιπαράλληλες, δηλαδή το 3' άκρο της μίας είναι απέναντι από το 5' άκρο της άλλης. Άρα η κάτω αλυσίδα του DNA είναι η μη μεταγραφόμενη (κωδική) με αλληλουχία και προσανατολισμό:

3' CCCCTAGGGAATTCTGATTATACCTAGGGAATTCTACAATATGATCCAACACCGTAACTAA 5'

γ.δ. Υποκινητής= Περιοχή του DNA που βρίσκεται ακριβώς μπροστά από το γονίδιο. Στον υποκινητή προσδένεται η RNA πολυμεράση με τη βοήθεια μεταγραφικών παραγόντων.

Κατεύθυνση Μεταγραφής



↓ Υποκινητής

5'GGGGATCCCTTAAGCTAATATGGGATCCCTTAAGATGTTATACTAGGTTGTGGCATTGATT 3'
3'CCCCTAGGGAATTCGATTATACCCTAGGGAATTCTACAATATGATCCAACACCGTAACTAA 5'



ε. Σύμφωνα με τα δεδομένα της άσκησης και τον κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων το παραγόμενο πρόδρομο mRNA θα προκύπτει με μεταγραφή του υπογραμμισμένου τμήματος της μη κωδικής αλυσίδας.

5'GGGGATCCCTTAAGCTAATATGGGATCCCTTAAGATGTTATACTAGGTTGTGGCATTGATT 3'

Δηλαδή το πρόδρομο mRNA θα έχει αλληλουχία

3'CCCUAGGGAAUUCUACAAUAUGAUCCAACACCGUA 5'

Η πληροφορία για τη σύνθεση πεπτιδικής αλυσίδας που περιέχεται στο παραγόμενο mRNA πρέπει να πληρεί τα παρακάτω κριτήρια:

να αρχίζει με το κωδικόνιο έναρξης

να διαβάζεται κατά τη μετάφραση:

συνεχώς,

τριαδικά,

μη επικαλυπτόμενα

με κατεύθυνση 5'-3'

και να τελειώνει με το κωδικόνιο λήξης

Στην περίπτωση που το mRNA είναι πρόδρομο:

Αρχίζει να διαβάζεται με τα κριτήρια που αναφέρθηκαν παραπάνω, σε κάποιο σημείο σταμάτα και ακολούθως η πληροφορία συνεχίζει το διάβασμα με τον ίδιο τρόπο (συνεχώς, τριαδικά, μη επικαλυπτόμενα) μέχρι να εμφανιστεί κωδικόνιο λήξης.

Άρα η πληροφορία είναι υπογραμμισμένη στο πρόδρομο mRNA.

Τα 5 αμινοξέα αντιστοιχούν σε 6 κωδικόνια και με δεδομένο ότι μπορεί να υπάρχουν αμετάφραστες περιοχές στο 5' και 3' άκρο το ώριμο mRNA θα έχει αλληλουχία:

3'CCCUAGGGAAUUCUCCAACACCGUA 5'

στ. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι ένζυμα που κόβουν το δίκλωνο DNA σε θέσεις όπου υπάρχει αλληλουχία νουκλεοτιδίων μήκους 4-8 νουκλεοτιδίων.

Η περιοριστική ενδονουκλεάση BamHI αναγνωρίζει την αλληλουχία

5' GGATCC

3' CCTAGG

κόβοντας μεταξύ G-G

Μόνο εάν ο προσανατολισμός της αλληλουχίας αναγνώρισης είναι:

5' GGATCC 3'

3' CCTAGG 5'

τότε μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή ανασυνδιασμένου πλασμιδίου που να περιέχει την αλληλουχία λήξης της μεταγραφής και το τμήμα που προκύπτει είναι:

5' GGG3' 5'GATCCCTTAAGCTAATATGG 3' 5' GATCCCTTAAGATGTTATACTAGGTTGTGGCATTGATT 3'
3'CCCCTAG 5' 3'GGAATTCGATTATACCCTAG 5' 3' GGAATTCTACAATATGATCCAAC ACC GTAACATA 5'